

1 / 1 WPAT - ©Thomson Derwent

Accession Nbr :

1999-217497 [19]

Sec. Acc. CPI :

C1999-064204

Sec. Acc. Non-CPI :

N1999-160370

Title :

Petal-specific plant promoter from Brassica napus - and vectors for producing plants with non existent or modified petals

Derwent Classes :

C06 D16 P13

Patent Assignee :

(INRG) INRA INST NAT RECH AGRONOMIQUE
(INRG) INST NAT RECH AGRONOMIQUE

Inventor(s) :

BROCARD I; CHARLOT F; GUERCHE P; TEOULE E

Nbr of Patents :

6

Nbr of Countries :

83

Patent Number :

FR2768746 A1 19990326 DW1999-19 C12N-015/29 Fre 37p *
AP: 1997FR-0011832 19970923

WO9915679 A1 19990401 DW1999-20 C12N-015/82 Fre
AP: 1998WO-FR02043 19980923
DSNW: AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY CA CH CN CU CZ DE DK
EE ES FI GB GE GH GM HR HU ID IL IS JP KE KG KP KR KZ LC LK
LR LS LT LU LV MD MG MK MN MW MX NO NZ PL PT RO RU SD SE
SG SI SK SL TJ TM TR TT UA UG US UZ VN YU ZW
DSRW: AT BE CH CY DE DK EA ES FI FR GB GH GM GR IE IT KE LS
LU MC MW NL OA PT SD SE SZ UG ZW

AU9892708 A 19990412 DW1999-34 C12N-015/82
FD: Based on WO9915679
AP: 1998AU-0092708 19980923

EP1017833 A1 20000712 DW2000-36 C12N-015/82 Fre
FD: Based on WO9915679
AP: 1998EP-0945367 19980923; 1998WO-FR02043 19980923
DSR: AT BE CH DE DK ES FI FR GB IT LI NL SE

BEST AVAILABLE COPY

This Page Blank (uspto)

JP2001517450 W 20011009 DW2001-74 C12N-015/09 39p
FD: Based on WO9915679
AP: 1998WO-FR02043 19980923; 2000JP-0512968 19980923

AU-740911 B 20011115 DW2002-02 C12N-015/82
FD: Previous Publ. AU9892708; Based on WO9915679
AP: 1998AU-0092708 19980923

Priority Details :

1997FR-0011832 19970923

IPC s :

C12N-015/09 C12N-015/29 C12N-015/82 A01H-005/00 C12N-005/10

Abstract :

FR2768746 A

A petal-specific plant promoter comprising at least part of (I), a defined sequence of 4516 bp (given in the specification), is new.

Also claimed are: (1) an expression vector comprising the: (a) promoter positioned upstream of a DNA sequence encoding a product capable of modifying the structure, shape, colour and/or texture of flower petals; and (b) an expression vector comprising the promoter positioned upstream of a DNA sequence encoding a cytotoxic product; (2) plant cells transformed with the vector of (1a) or (1b); and (3) plants comprising the cells of (2), and plants whose flowers have no petals.

USE - The vector of (1a) can be used to produce ornamental plants. The vector of (1b) can be used to produce plants whose flowers have no petals. The vector of (1b) can be modified by inserting at least one stop codon into the coding sequence and used to produce hybrid plants whose flowers have no petals by transforming plants with the modified vector, crossing the transformed plants with plants expressing a tRNA suppressor gene, and selecting hybrid plants having flowers with no petals.

ADVANTAGE - Plants without petals would facilitate control of pathogenic fungi that infect plants at sites where dead petals have fallen on leaves, e.g. Sclerotinia sclerotiorum in the case of oilseed rape. (Dwg.0/7)

Manual Codes :

CPI: C04-A08 C04-A09 C04-A10 C04-E08 C04-F08 D05-H12D5 D05-H12E D05-H14B3 D05-H16B

Update Basic :

1999-19

Update Equivalents :

1999-20; 1999-34; 2000-36; 2001-74; 2002-02

Update Equivalents (Monthly) :

2001-12; 2002-01

Search statement 3



This Page Blank (uspto)



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C12N 15/82, 15/29, 5/10, A01H 5/00		A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 99/15679
			(43) Date de publication internationale: 1er avril 1999 (01.04.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/02043		(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).	
(22) Date de dépôt international: 23 septembre 1998 (23.09.98)		Publiée Avec rapport de recherche internationale.	
(30) Données relatives à la priorité: 97/11832 23 septembre 1997 (23.09.97) FR			
(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE [FR/FR]; 147, rue de l'Université, F-75007 Paris (FR).			
(72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): BROCARD, Inès [FR/FR]; 49, rue du Colonel de Bauge, F-78150 Le Chesnay (FR). CHARLOT, Florence [FR/FR]; 27, rue du Caire, F-75002 Paris (FR). TEOULE, Evelyne [FR/FR]; 1, rue Daniel Barberousse, F-78210 Saint Cyr l'Ecole (FR). GUERCHE, Philippe [FR/FR]; 7, rue Marceau, F-92170 Vanves (FR).			
(74) Mandataires: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).			
(54) Title: PETAL-SPECIFIC PROMOTER AND METHOD FOR OBTAINING PLANTS HAVING FLOWERS WITH NO PETALS			
(54) Titre: PROMOTEUR SPECIFIQUE DES PETALES ET PROCEDE D'OBTENTION DE PLANTES A FLEURS SANS PETALE			
(57) Abstract			
The invention concerns a petal-specific promoter and a method for obtaining plants having flowers with no petals.			
(57) Abrégé			
L'invention concerne un promoteur spécifique des pétales ainsi qu'un procédé d'obtention de plantes à fleurs sans pétale.			

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroon	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

PROMOTEUR SPECIFIQUE DES PETALES ET PROCEDE D'OBTENTION DE PLANTES A FLEURS SANS PETALE

La présente invention concerne notamment un promoteur spécifique des
5 pétales et un procédé d'obtention de plantes à fleurs sans pétale.

L'intérêt de l'obtention de plantes dépourvues de pétales est parti de
l'observation que les pétales sénescents, en tombant sur les feuilles pourraient
fournir des foyers d'infection privilégiés pour les spores de certains champignons
pathogènes. Dans le cas du colza, par exemple, le mode d'infection de *Sclerotinia*
10 *sclerotiorum* suit principalement cette voie. Ce champignon est responsable en
effet d'importants dommages sur les cultures de colza (Lamarque, 1983) et on ne
connaît pas de résistance génétique à celui-ci ni chez le colza ni chez les espèces
apparentées. Ainsi, à l'heure actuelle, seuls les traitements chimiques préventifs
sont utilisés.

15 La lutte contre *Sclerotinia sclerotiorum* par le biais de plantes dont les
fleurs n'auraient pas de pétales permettrait de diminuer l'utilisation de fongicide et
limiterait donc la pollution des sols subséquente.

Il s'agit donc de produire des plantes à fleurs sans pétale et d'éprouver ainsi
une stratégie de lutte contre le susdit champignon basée sur une résistance
20 "physique" et non pas sur l'utilisation de gènes de résistance au sens classique.

La présente invention propose donc d'obtenir des plantes dont les fleurs
seraient dépourvues de pétales. Elle consiste à mettre en œuvre une région
promotrice contrôlant l'expression spécifiquement dans les pétales d'une séquence
(orf) codant pour une molécule susceptible de modifier les caractéristiques
25 naturelles du pétale voire d'en inhiber la formation.

Ainsi, on peut envisager de modifier la structure, la forme, la coloration
et/ou la structure des pétales de fleurs en plaçant, en aval de la région promotrice
ci-dessus décrite des gènes impliqués dans la biosynthèse des pigments ou des
gènes de régulation comme les protéines MYB (Noda et al. 1994). Ce type

d'expérience a déjà été réalisé (Elomma et al., 1996 ; Gutterson, 1995). Toutefois, les promoteurs utilisés sont plutôt de types constitutifs comme le 35S du CaMV alors qu'il serait intéressant de confiner l'expression du transgène à l'organe ciblé. On peut donc, dans le cadre de la présente invention, envisager la création de
5 plantes ornementales originales.

La présente invention a donc pour objet une séquence nucléotidique dont il a été démontrée que le gène correspondant s'exprime spécifiquement dans le pétale, cette séquence nucléotidique correspond à SEQ ID N° 5.

Par conséquent, la présente invention a pour objet une séquence
10 nucléotidique qui correspond à tout ou partie :

- a) de la séquence selon SEQ ID N° 5, ou
- b) d'une séquence s'hybridant à la séquence selon a), ou
- c) d'une séquence présentant au moins 80 % d'homologie avec a) ou b).

- Dans le cadre de la présente invention, la partie la plus intéressante de
15 cette séquence nucléotidique est la région promotrice définie comme étant la
séquence précédant (côté 5') le codon du début de traduction (ATG). *Strito sensu*
cette région promotrice s'étend du nucléotide 1 au nucléotide 3265 (c'est-à-dire au
dernier nucléotide précédant immédiatement le codon ATG) mais, compte tenu
des sites de restriction, cette région s'étend préférentiellement du nucléotide 1 au
20 nucléotide 3233 (correspondant au site *AvaI*) et plus préférentiellement encore du
nucléotide 2911 au nucléotide 3233 de SEQ ID N° 5.

Cette région promotrice précède donc à l'état naturel, un orf qui est exprimé spécifiquement dans les pétales et dans le cas où cet orf est remplacé (par manipulation génétique) par un autre orf dont le produit est une molécule
25 cytotoxique, cette dernière est susceptible de ne détruire que lesdits pétales. Le remplacement peut également être réalisé par une partie de gène susceptible, lors de son expression spécifique dans le pétale, d'en modifier les caractéristiques d'origine.

La présente invention a donc également pour objet des vecteurs d'expression cellulaire comprenant une région promotrice telle que ci-dessus décrite placée en amont d'une séquence d'ADN codant pour un produit capable de modifier la structure, la forme, la coloration et/ou la texture des pétales de fleurs, ainsi qu'un procédé d'obtention de plantes ornementales comprenant l'insertion dans lesdites plantes d'un de ces vecteurs. L'invention comprend également le cas où ladite séquence d'ADN code pour un produit cytotoxique.

Avantageusement, le produit cytotoxique en question est une ribonucléase. En effet, lorsque cette RNase s'exprimera spécifiquement dans les pétales, elle en détruira tous les ARN, ce à quoi le pétale ne pourra pas survivre. Préférentiellement, la RNase est la barnase, dont l'orf correspondant a été isolé de *Bacillus amyloliquefasciens* (Hartley RW, 1988).

Il s'agit donc d'introduire un vecteur conforme à l'invention dans une souche bactérienne susceptible de réaliser la transformation de cellules de plantes telles qu'*Agrobacterium tumefaciens*. Ceci peut notamment être réalisée par la méthode d'infiltration de plantes d'*Arabidopsis thaliana* décrite par Bechtold et al.; 1993. Cette technique consiste à introduire la bactérie dans les cellules des hampes florales par infiltration sous vide. Les plantes sont ensuite repiquées en serre et leurs graines récoltées. Environ une graine sur mille donne naissance à des plantes dont toutes les cellules portent le transgène. La transformation d'autres plantes et notamment du colza peut être réalisée par l'intermédiaire d'*Agrobacterium tumefaciens* et/ou d'*Agrobacterium rhizogenes* à l'aide de diverses techniques, maintenant classiques (transformation de disques foliaires, d'hypocotyles de hampes florales...) associant une phase de co-culture de la bactérie avec les tissus végétaux, suivie de la sélection et de la régénération des cellules transformées en plantes entières. D'autres techniques de transformation ne font pas intervenir cette bactérie et permettent de transférer directement le gène cloné dans des cellules ou des tissus (électroporation, canon à particules...) et de sélectionner et d'obtenir des plantes transformées (technique revue par Siemens et Schieder).

La présente invention a également pour objet des cellules de plantes transformées avec un vecteur conforme à l'invention ainsi que des plantes comprenant lesdites cellules. L'invention a également pour objet des plantes dont les fleurs n'ont pas de pétales.

5 Comme indiqué précédemment, la présente invention permet donc l'obtention de plantes dont les fleurs n'ont pas de pétales ; le procédé conforme à l'invention comprenant l'insertion dans les plantes d'un vecteur tel que ci-dessus décrit et comprenant une séquence d'ADN codant pour un produit cytotoxique.

Dans le cadre de la présente invention, on peut également envisager
10 d'obtenir des plantes hybrides par croisement de deux lignées dont on chercherait à associer les qualités agronomiques. Cependant, afin que la pollinisation entomophile s'opère de façon optimum, il est nécessaire que les parents de l'hybride en question portent des pétales. Un tel croisement n'est donc possible qu'au moyen d'un système d'activation du gène toxique à double composante. Le
15 principe d'un tel système consiste à disposer de deux lignées portant chacune un constituant n'ayant pas d'activité cytotoxique. L'activité toxique spécifique est alors restaurée dans les hybrides de ces deux lignées par combinaison des deux constituants.

Un exemple possible d'un tel système consiste à inactiver le produit
20 d'expression que l'on veut contrôler par insertion d'au moins un codon stop au début de la séquence codante correspondante puis d'ajouter en *trans* dans le système, un ARNt dit "suppresseur" qui va reconnaître le ou les codon(s) stop et apporter l'acide aminé qu'il porte au lieu de terminer la traduction. La protéine pourra alors être traduite intégralement et son activité restaurée. Un tel système a
25 déjà été expérimenté concernant la séquence codante du gène GUS dans laquelle a été insérée le codon stop ambre, l'ARNt suppresseur utilisé étant porteur de la leucine. De plus, la fonctionnalité d'un tel système de transactivation utilisant un ARNt^{Leu} suppresseur a été vérifié *in planta* dans *Arabidopsis thaliana* et *Nicotiana tabacum*. Ce modèle a été ensuite appliqué au cas de la barnase. Des

gènes mutés (c'est-à-dire dans lesquels ont été insérés un codon stop) codant pour la barnase et dépendant de l'expression du gène de ARNt^{Leu} ont été obtenus et testés en expression transitoire dans des protoplastes de tabac (Choisne Nathalie, 1997).

5 La présente invention concerne donc également un procédé d'obtention de plantes hybrides dont les fleurs n'ont pas de pétale et comprenant les étapes de :

- a) transformation de plantes d'une lignée A avec un vecteur conforme à l'invention et comprenant une séquence d'ADN codant pour séquence cytotoxique modifiée par l'insertion d'au moins un codon stop,
- 10 b) croisement des plantes de lignée A ainsi obtenues avec des plantes de lignée B exprimant le gène d'un ARNt suppresseur,
- c) sélection des plantes hybrides avec des fleurs sans pétales.

Dans le cadre de la présente invention, les plantes de lignée A sont transformées par une construction similaire à pIB352 telle que représentée dans la
15 figure 7.

Avantageusement, les plantes conformes à l'invention appartiennent à la famille des Brassicacées, préférentiellement, il s'agit du colza.

La figure 1 illustre l'analyse par hybridation de type Northern d'ARN polyA+ (2 µg) et des ARN totaux (10 µg) de colza. La membrane est hybridée
20 avec l'ADNc 9.2 entier marqué au ³²P. La révélation est faite après 24 heures d'exposition à - 80°C avec un écran. Les ARNm identifiés ont une taille approximative de 800 pb. Plantule 1 : plantule d'une semaine ; Plantule 2 : plantule de deux semaines

La figure 2 illustre la comparaison des séquences protéiques d'*Arabidopsis*
25 *thaliana* (en haut) et du colza (en bas) déduites respectivement de ADNc X74360 (SEQ ID N° 1) et 9.2 (SEQ ID N° 2). La protéine d'*Arabidopsis thaliana* présente une longueur de 140 aa alors que la protéine de colza présente une longueur de 147 aa. L'homologie entre les deux étant de 74,6 %. Les étoiles repèrent les acides aminés communs aux deux séquences et les points figurant

dans l'ADNc d'*Arabidopsis thaliana* n'ont été indiqués que pour permettre de placer l'une en face de l'autre les séquences communes aux deux plantes, la séquence d'*Arabidopsis thaliana* devant se lire en continu, c'est-à-dire en faisant abstraction desdits points.

5 La figure 3 représente l'alignement des séquences nucléotidiques des ADNc 9.2 du colza (en bas) et X74360 d'*Arabidopsis thaliana* (en haut), les deux séquences présentant une homologie totale de 83 %.

La figure 4 représente les cartes de restriction partielles des clones génomiques (A : *Ava*I, B : *Bam*HI, EI : *Eco*R1, EV : *Eco*RV, H : *Hind*III, Hc :
10 *Hinc*II, P : *Pst*I, S : *Sac*I, S1 : *Sal*I, Xb : *Xba*I, Xh : *Xho*I).

La figure 5 représente la séquence 5'→3' du clone génomique 4.1.1 (SEQ ID N° 5). La séquence palindromique a été soulignée deux fois, la séquence codante a été soulignée une fois. Les sites de restriction suivants ont été repérés :
15 *Bam*HI (en position 1) : GGATCC ; *Sal*I (en position 2911) : GTCGAC et *Ava*I (en position 3229) : CCCGAG.

La figure 6 représente les constructions réalisées avec les promoteurs des clones génomiques 4.1.1 et 8.1.1.

20 région promotrice distale du clone génomique 4.1.1
séquence palindromique
région promotrice proximale du clone génomique 4.1.1
région promotrice de 322 pb du clone génomique 4.1.1
région promotrice de 322 pb du clone génomique 8.1.1
terminateur du gène de la nopaline synthase
séquence codante du gène rapporteur gus
25 séquence codante du gène 4.1.1
région 3' du gène 4.1.1 non traduite

La figure 7 illustre les constructions réalisées avec le promoteur de 322 pb du clone génomique 4.1.1.

5 promoteur de 322 pb du clone génomique 4.1.1
séquence codante du gène rapporteur gus
séquence codante du gène de la barnase sauvage
séquence codante du gène de la barnase mutée
terminateur du gène de la nopaline synthase
terminateur 19S du CaMV

10 L'invention ne se limite pas à seule description ci-dessus, elle sera mieux
comprise à la lumière des exemples ci-après qui ne sont cependant donnés qu'à
titre illustratif.

**EXEMPLE 1 : Mise en évidence d'un promoteur spécifique des
pétales**

15 La première étape a consisté en l'obtention de clones d'ADN
complémentaires (ADNc) exprimés spécifiquement dans le pétale. Pour cela, les
ADNc ont été synthétisés à partir d'ARN messagers (ARNm) de pétale de colza.
Parallèlement, des ADNc ont été synthétisés à partir d'ARNm de feuilles, de
boutons floraux dont les pétales ont été enlevés et d'étamines.

20 Les ADNc provenant desdits organes ou tissus ont été soustraits aux
ADNc dérivés des' ARNm exprimés dans le pétale de colza. Les molécules
résultant de cette soustraction ont été utilisées lors d'une expérience d'hybridation
différentielle d'une banque d'ADNc de pétale selon une technique similaire à celle
présentée par Atanassov et al. 1996.

25 Plusieurs clones d'ADN de colza ont été isolés à l'issue de cette expérience.
Leur profil d'expression a été étudié par la technique d'hybridation moléculaire de
type Northern. En l'absence de clone strictement spécifiques du pétale (au seuil de
détection de la technique) le candidat le plus pertinent a été retenu pour la suite
des études ; il s'agit du clone 9.2. Ce clone est fortement exprimé dans le pétale au

stade jeune (bouton de 3 mm environ) et très faiblement dans les étamines (figure 1).

Les recherches d'homologie de séquences dans les banques de données montrent une forte similitude entre la protéine déduite de la phase ouverte de lecture (orf) du clone 9.2 et la séquence codante d'un gène d'*Arabidopsis thaliana* (X74360) codant pour une protéine putative de la paroi dont l'expression est régulée par les gibbérellines (Phillips et Huttly, 1994) (figure 2). Le degré d'homologie présenté par les séquences d'ADNc respectives correspondantes est supérieur à 80 % dans les 500 premières bases puis disparaît totalement sur les 220 restantes (figure 3).

Le clone d'ADNc 9.2 de colza a servi de sonde pour cribler une banque génomique de colza. Sept clones génomiques ont été isolés. Sur la base des cartes de restriction et des séquences, ces sept clones se répartissent en deux groupes suggérant l'existence chez le colza d'une famille d'au moins deux gènes nommés dans la suite du texte 4.1.1 et 8.1.1 (figure 4). L'ADNc 9.2 est dérivé du gène correspondant du clone génomique 4.1.1.

Une étude préliminaire par amplification PCR a été réalisée sur le clone 9.4.1 appartenant au groupe du 4.1.1. En effet, la structure du clone génomique a permis d'amplifier une région amont de 3233 pb en utilisant des techniques d'amplification de grands fragments d'ADN et de séquençage progressif par PCR.

Cette région de 3233 pb s'étend du nucléotide 1 au nucléotide 3233 de la séquence représentée sur la figure 5 et elle se termine au niveau du site *AvaI* au niveau duquel la coupure a été effectuée ainsi que le clonage pour l'obtention de "bouts francs".

Puis les régions amonts susceptibles de contenir les séquences régulatrices ont été sous-clonées dans des vecteurs de clonage à partir des deux clones génomiques (4.1.1 et 8.1.1). On dispose donc actuellement, pour le clone 4.1.1, de plus de 4 kb de séquence correspondant majoritairement à l'orf et aux régions amonts (figure 5).

EXEMPLE 2 : Vérification de la spécificité de la région promotrice

Différentes constructions comprenant le gène rapporteur GUS placé sous le contrôle de certaines de ces séquences ont été réalisées afin d'étudier l'expression de ces gènes chimériques (c'est-à-dire constitués de la séquence
5 codante d'un gène connu précédé de la région promotrice conforme à l'invention) dans des plantes transformées d'*Arabidopsis thaliana* et de colza.

Ces constructions se regroupent en deux catégories en fonction de l'orf placée sous le contrôle des séquences régulatrices :

- 10 - le gène rapporteur GUS pour étudier les profils d'expression et vérifier la spécificité conférée par le promoteur,
- le gène de barnase sauvage ou inactivé pour empêcher la formation du pétale par expression dans cet organe de ce gène toxique (les figures 6 et 7 détaillent la composition de chaque construction).

Les profils d'expression du gène rapporteur GUS chez les transformants
15 d'*Arabidopsis* obtenus dans le cas du pIB100 montrent une certaine variabilité sur l'ensemble des plantes (voir tableau 1 ci-après qui énumère les parties des plantes transformées chez lesquelles on a observé une coloration bleue). Cependant, chez près de la moitié des plantes présentant une coloration bleue (13/30), le gène rapporteur ne s'exprime que dans les pétales (au seuil de détection de la
20 technique). On retrouve chez certaines plantes une faible expression dans les étamines, peu surprenante du fait des résultats des hybridations de type Northern, mais aussi parfois une expression dans d'autres organes floraux ce qui pourrait suggérer l'influence d'effets de position du transgène dus à sa petite taille. Toutefois l'existence d'une proportion significative de plantes présentant le profil
25 attendu laisse à penser que le fragment proximal de 322 pb est capable de conférer une expression spécifique du pétale. La stabilité de cette expression a été testée sur les descendants en autofécondation de ces plantes. Pour la plupart, on retrouve bien la spécificité "pétale" (données non montrées).

Des séquences promotrices plus longues ont également été mises en œuvre par le biais des constructions pIB102 et pIB105 et les plantes transformées d'*Arabidopsis thaliana* ont été observées (le tableau 2 énumère les parties des plantes transformées par pIB102 et présentant une coloration bleue, le tableau 3
5 énumère les parties des plantes transformées par pIB105 et présentant une coloration bleue). On ne retrouve pas la spécificité pétale dans la proportion précédemment observée car dans presque tous les cas, le gène rapporteur est effectivement exprimé dans le pétale mais également dans d'autres organes de la fleur.

10 De même, des plantes transformées de colza ont été obtenues avec une construction comportant comme séquence régulatrice le fragment amont du gène 4.1.1 de 3233 pb cloné après amplification par PCR. Sur les neuf plantes de colza qui ont déjà pu être observées, le gène rapporteur s'exprime dans le pétale mais aussi dans d'autres organes de la fleur (données non montrées), comme on
15 l'observe chez *Arabidopsis* avec ces grandes régions promotrices.

Ces résultats suggèrent que ces fragments sont trop longs alors que l'on pense que le précédent (322 pb) pourrait être un peu court et donc amplifier les effets de position éventuels. Ce dernier cependant donne lieu aux résultats les plus prometteurs.

20 Les promoteurs pIB351 et pIB352 (figure 7) analogues au pIB100 mais comportant respectivement la séquence codante du gène de la barnase sauvage et cette même séquence inactivée par insertion d'un codon stop (dénommée alors barnase mutée) au lieu de la séquence codante du gène rapporteur ont été introduites dans *Arabidopsis thaliana* (résultats non encore disponibles).

TABLEAU 1

SEPALES	PETALES (Nombre)	ETAMINES	PISTILS	FEUILLES	SILIQUES	AUTRES	PLANTES TRANSFORMEES (Nombre)
-	4	-	-	-	-	-	13
-	4	-	haut stigmat sous papille	-	-	-	1
-	4	-	sauf papille	-	-	-	1
-	2/4	-	sauf papille	2 pointes	-	-	1
-	1/4 1 fleur	-	sous papille 1 fleur	-	-	-	1
-	4	pointe jeune étamine	-	-	-	Péduncule floral	1
-	4	haut filet	pistil	-	-	-	1
-	4	petit bouton	sous papille	-	-	-	1
-	4 légers	jeune	intérieur sauf papille	-	intérieur	-	1
-	4	-	sauf papille	-	-	-	1
bouton	4	-	peu haut stigmat	-	-	Péduncule floral	3
bouton	4	tissu connectif	stigmat	pointe	-	-	1
pointe	4	haut filet	intérieur	-	-	-	1
certain	4	connectif	pistil	pointe + marge	-	-	1
bord	4	pointe	sous papille	-	-	-	1
bord	4	haut sac pollinique	haut stigmat	-	-	-	1
30 plantes							

TABLEAU 2

SEPALES	PETALES (Nombre)	ETAMINES	PISTILS	FEUILLES	SILIQUE	AUTRES	PLANTES TRANSFORMEES (Nombre)
-	2 sur qq fleurs	-	-	-	-	-	1
-	4	-	sous papille	-	-	-	6
-	4	filet	sous papille	-	-	-	7
bouton	4	-	sous papille	-	-	-	1
bouton	4	sac pollinique;filet	sous papille	-	-	-	2
+	+	+	sauf papille	-	-	-	1
bouton	4	entier bouton	sauf papille âgée	pointe haut	-	Pédoncule floral	1
19 plantes							

TABLEAU 3

SEPALE	PETALE (Nombre)	ETAMINE	PISTIL	FEUILLE	SILIQUE	AUTRES	PLANTES TRANSFORMEES (Nombre)
-	1 fleur	-	-	-	-		1
-	-	-	sous papille	-	-		1
-	4	sac pollinique, filet	sous papille	-	-		6
-	4	entier	sauf papille	bordure	-	Pédoncule floral	1
bouton	-	-	-	-	-		1
bouton	4	entier	sauf papille	-	-		1
bouton	4	entier	sauf papille	petites	-	Pédoncule floral	3
bouton	4	sac pollinique, filet	sous papille	-	-		19
bouton	4	filet	sous papille	pointes	-		3
36 plantes							

REFERENCES

- 5 Atanassov I et al. (1996) Plant Science 118, 185-194
- Bechtold N. et al (1993) Comptes-Rendus de l'Académie des Sciences 316, 1194-1199
- 10 Choisne Nathalie (1997). Etude de l'expression *in vivo* d'une gène d'ARNt leu de *Phaseolus vulgaris* et l'utilisation de ce gène dans un système de suppression. Thèse de doctorat de l'université de Paris XI (N° d'ordre 4691).
- Elomaa P. et al. (1996). Molecular Breeding 2 : 41-50.
- 15 Gutterson N. (1995). HortScience, Vol. 30(5), August 1995.
- Hartley RW, 1988. Barnase and barstar : expression of its cloned inhibitor permits expression of a cloned ribonuclease. J. Mol. Biol, 202, 913-915.
- 20 Lamarque C. (1983) Proc. 6th int. Rapeseed Cong. 1983, Paris, France, pp 903-907
- Noda K-I, et al. (1994). Nature. Vol 369. 23 June 1994.
- 25 Phillips A.L. and Huttly A.K. (1994). Plant Mol Biol. 24 : 603-615
- Siemens and Schieder 1996. Plant Tissue Culture and Biotechnology, 2, 66-75

REVENDICATIONS

1. Séquence nucléotidique correspondant à tout ou partie :
 - a) de la séquence selon SEQ ID N° 5, ou
 - 5 b) d'une séquence s'hybridant à la séquence selon a), ou
 - c) d'une séquence présentant au moins 80 % d'homologie avec a) ou b).
2. Séquence nucléotidique selon la revendication 1 correspondant à tout ou partie :
 - 10 a) de la séquence s'étendant du nucléotide 1 au nucléotide 3233 et de préférence du nucléotide 2911 au nucléotide 3233 de SEQ ID N° 5, ou
 - b) d'une séquence s'hybridant à la séquence selon a), ou
 - c) d'une séquence présentant au moins 80 % d'homologie avec a) ou b).
- 15 3. Vecteur d'expression cellulaire comprenant une séquence selon la revendication 2 placée en amont d'une séquence d'ADN codant pour un produit capable de modifier la structure, la forme, la coloration et/ou la texture des pétales de fleurs.
- 20 4. Vecteur d'expression cellulaire comprenant une séquence selon la revendication 2 placée en amont d'une séquence d'ADN codant pour un produit cytotoxique.
- 25 5. Vecteur selon la revendication 4, caractérisé en ce que le produit cytotoxique est une ribonucléase et de préférence la barnase.
6. Cellules de plante transformées par un vecteur selon l'une des revendications 3 à 5.
- 30 7. Plantes comprenant des cellules selon la revendication 6.
8. Plantes dont les fleurs n'ont pas de pétale.

9. Procédé d'obtention de plantes ornementales comprenant l'insertion dans lesdites plantes d'un vecteur selon la revendication 3.
- 5 10. Procédé d'obtention de plantes dont les fleurs n'ont pas de pétale, comprenant l'insertion dans lesdites plantes d'un vecteur selon la revendication 4 ou 5.
- 10 11. Procédé d'obtention de plantes hybrides dont les fleurs n'ont pas de pétale comprenant les étapes de :
- a) transformation de plantes d'une lignée A avec un vecteur selon la revendication 4 ou 5 modifié par insertion d'au moins un codon stop dans la séquence codante de l'ADN,
 - b) croisement des plantes de lignée A obtenues en a) avec des plantes de
 - 15 lignées B exprimant le gène d'un ARNt suppresseur,
 - c) sélection des plantes hybrides avec des fleurs sans pétale.
- 20 12. Plantes selon la revendication 7 ou 8 ou obtenues par la mise en œuvre du procédé selon la revendication 10 ou 11, caractérisées en ce qu'elles appartiennent à la famille des Brassicacées et de préférence en ce qu'il s'agit du colza.

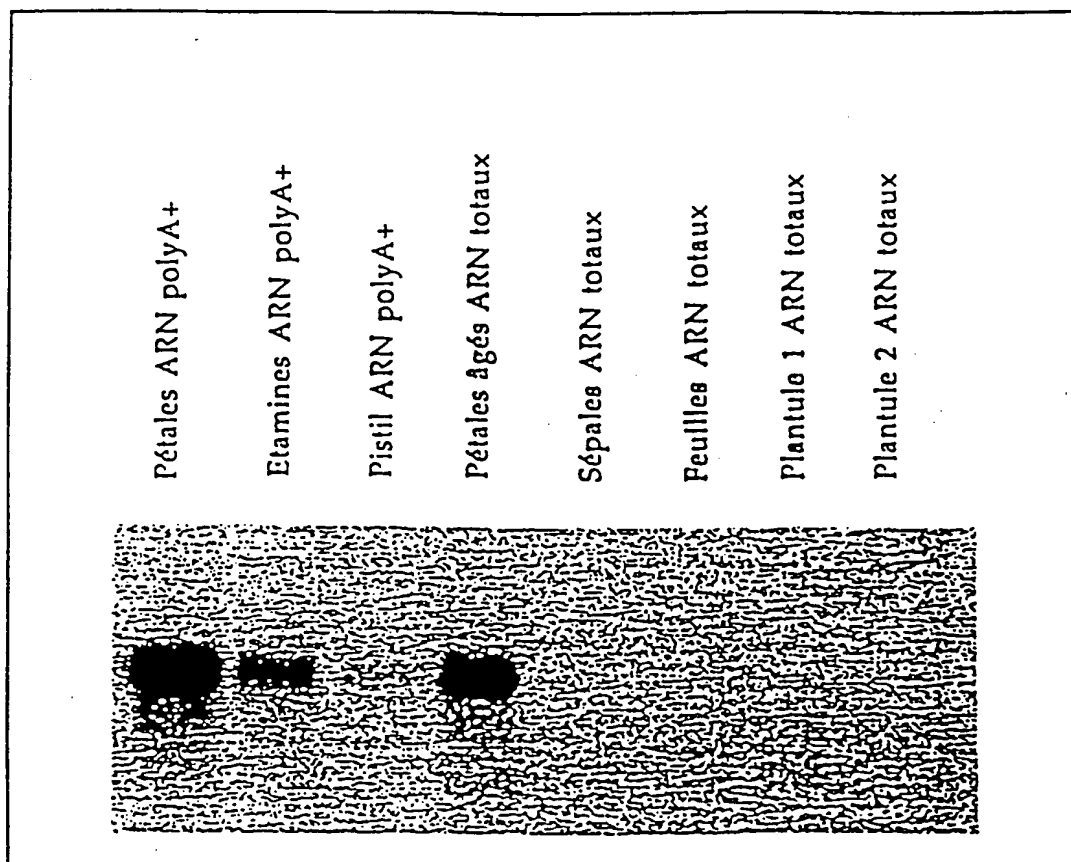


FIGURE 1

MASSLLT...ITS
AVVLSLVGSVEQVSGLRHVPKSPKITDVKHPDFLVTIEPKPTILIPGVGRFLL

MASSLLTAAAAVTVMILSLLGPAAEQVSGLRHHIPKSHKTDDVKHPEFLVTIEPKPTILIPGVGRFLL

PKCKKKPFYPNPVTGAPLTGGIPSYNGGQAGPH... *

 PKCKKKPFYPNPVTGAPLTGGSIGGQIPFSGGQGGGARTQLPGGDDTLVPNPGFETPTPATGAGAG

SNGQVPPVPLP

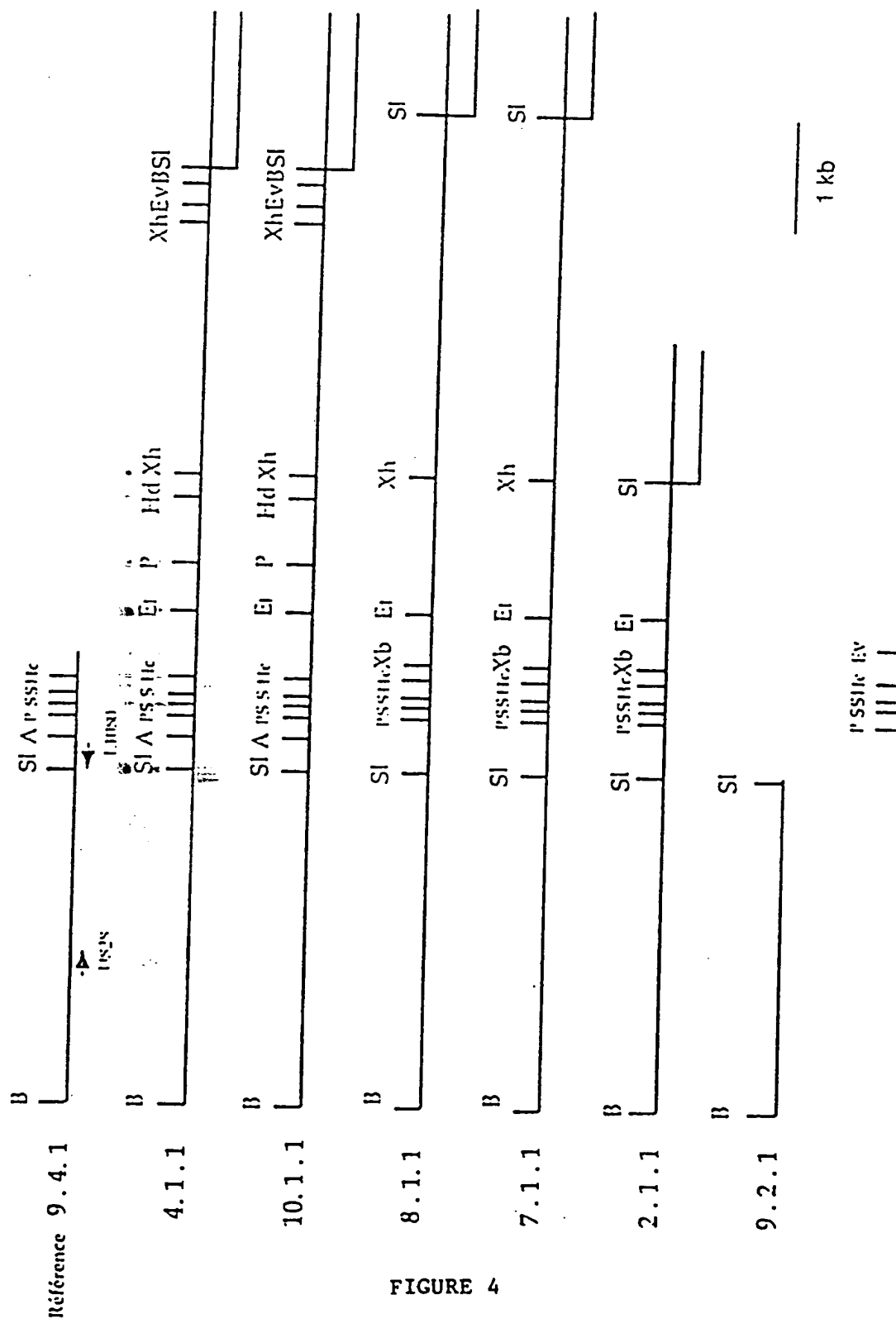
NNGQVPPVPLP

FIGURE 2

FIGURE 3

AthX74	GCTTTCTCCT	CTACAACAAA	ATAAAATAAA	ATTAATGGCT	TCTTCACTTA
9.2	-----	-----	-----	-----	-----
	51				100
AthX74	TCACCTCCGC	AGTCATTGTC	GTGGTTTTAA	GCCTAGTGCT	TGGATCTGTA
9.2	-----AGC	AGTCACTGTC	ATGATTCTTA	GCCTACTGCT	TGGACCTGCA
	101				150
AthX74	GAGCAAGTGA	GTGGACTACG	TCACGTTCCC	AAGTCCCCTA	AGATCACTGA
9.2	GAGCAAGTTA	GCGGACTGCG	TCATATTCCC	AAGTCCCATA	AGACCACTGA
	151				200
AthX74	TGTCAAACAC	CCTGACTTTC	TTGTAACCAT	TGAGCCCCAA	CCAACATATC
9.2	TGTCAAACAC	CCTGAGTTTC	TTGTCACCAT	TGAGCCAAAA	CCAACATATC
	201				250
AthX74	TCATTCCCCG	TGTTGGAAGG	TTCTTGCTTC	CTCCCCAATG	CAAGAAGCCG
9.2	TCATCCCCCG	TGTTGGAAGG	TTCTTGCTTC	CTCCCCAATG	TAAGAAACCA
	251				300
AthX74	TTCTACCCTT	ACAATCCTGT	CACCGGAGCT	CCACTTACT.
9.2	TTCTACCCAT	ACAATCCAGT	CACTGGAGCT	CCCCTTACTG	GCGGGTCTAT
	301				350
AthX74	.GGTGGGGGA	ATCCCATCAT	ATAATGGTGG	ACAAGGGGCC	GGACCTCACA
9.2	CGGTGGTCAA	ATCCCATCAT	TTGGTGGTGG	ACAAGGAGGC	GGAGCTCGCA
	351				400
AthX74	CCCAACTCCC	TGGTGGCGAT	GATACGCTTG	TCCCAAACCC	CGGATTTGAA
9.2	CCCAGCTCCC	TGGTGGCGAT	GATACCCTTG	TCCCAAACCC	CGGATTTGAA
	401				450
AthX74	GAGCCAACCC	CGACCATTGG	AGCTGGCACA	GGAAGCAACG	GCCAAGTTCC
9.2	ACTCCAACCC	CTGCCACTGG	AGCTGGCGCT	GGAACAACG	GCCAAGTTCC
	451				500
AthX74	ACCAAGTGCCA	CTACCCTGAG	TATTATT...	.AATCTGTCA	ACAAATAAGC
9.2	TCCGGTGCCA	CTACCCTGAT	TTCTTTTCA	ATATCTGTCA	ACAAATAAGC
	501				550
AthX74	ATATCTTAGA	TGCAAACATG	TCTGTTTTGG	TGTCTTGAGT	CTTGGTTAGA
9.2	ATTTCTTTAA	TGCAAAAGTG	TCTATTT..G	AGTCTTACCT	TCTGGTTTAC
	551				600
AthX74	TAAGTAACCC	GCTACTTTAC	TAGCCGTTTC	GTTTGCCATC	TCTTTTTCTC
9.2	TAGCCGTAC	CTTAAGAGTC	ATATGTTTGT	CATCTCTCTC	TTTCTTTTTG
	601				650
AthX74	TCTGTGTCTC	TCTCTATTTG	CTACAAAAAG	AGAGAATCTT	GTTTCATGTT
9.2	GAAGAGAGAA	TCTTGTGTCT	TATGCCGTCA	GAAGAAATTT	AAAGCATTTG
	651				700
AthX74	TTTCAGTTTG	TCTTTAGATG	AATTCATTTT	CACATACCAT	TATATTAAAA
9.2	TTT..ACATG	CCATTACATT	CAACTATCAA	AATGCTTTAT	GATAAAAAAA
	701		727		
AthX74	TAAAGGAAAT	GTTCCGCAGT	AAAAAAA		
9.2	AA-----	-----	-----		

Alignement nucléotidique des ADNc X74360 et 9.2



5/11

FIGURE 5

1 GGATCCTTG TTAGGATTTT AGGGCTTTGT GAGTTCAGAA AATCTCTAAA
51 GCTTCATTTT TATCAATCAA GCTTTTTTTT TTTAAATTAA ACATTCTAAA
101 GTCTCTAAAG TCATTATAAG TTTATTTCTC CTCTTTTG TG GTTTTTC
151 TAAAACCAAT AATGCGTGAT TTTTGCAATT TTTTTTTTC ACTAAAAATG
201 TTTTATTTTC TTTTACTTT GTAACATAAT CACTTATTTA AGTTTATAAC
251 AATTTTCGTT AAATTTAAAA TTGACAAATT AATCATTGAA TTTTTTCTT
301 GTTCATTTAA GATCCGTATT GTACTACTTT TATAATCATC TATATTTAAA
351 TTTTAAATAG TATCATAATT TTATTTTTTA ATAAAATATT TAAATATTAT
401 CCAAACCTAT AATTTTAATA CCAATCTGTT TTAATAAAAC GTAAACGAAT
451 CAGCCAAATT CCTATGGCCA TAATTCTGAA TCCAAGCTTA AACAAAAGTA
501 CTTATCAATC GGACCCTAAG AGTCCTCGTA ATTAGGGTTC TTTAAGATT
551 TTACCATTG AGCAGTTGAA TCAATGATCG TTTTCATGCG AGTAACTTA
601 TTTGTAATAT TTAGTGGGGG CAGCTGCCTC CTCCTGAAC ACCGTAGATC
651 TCCCCCTGT TTCTATCTCT TACTGTGGAT GTAAGATCTA TTATTTCTT
701 GGGTTTTGTG TTTGTGAATG CGTCTTATAT AGTGAGCATT AGCTTAGAGT
751 TTCCCATTTT ATTGAATATT TTCATTCTTA TTCATGTGGG TATCACAAAG
801 GCATGGCCGA CTACCACTAT GTTATTCCTA TTCCTCCAGA TATTGCACAG
851 CAGAAGAAGA GGAAATGGAT GGAGGTGAAG TCGCTTGCAG GTGATTCTTT
901 TCCGTTCAAT TTGGTATTTT CATTATATTG CAAATCTTAA TATTTGTAG
951 CGAAAAGAAT ATTTTGTAGC ATAGTTTAAA ATTTTAAATA CGTATTCTTG
1001 CTTTAAGCTG TGTTTTGATG TAAAGTAAAA CATATGTACC AAAAGAACAA
1051 GACAATGTTT AAGTCTATAC GGAACCCATA CGGGACCCTT GTCCTTGCTC
1101 AGTTGACATT GTTCAGGCCA AGAACTACAC CAACAATTTT AAATCAACCT
1151 ATTGAAATTA GAAAAGAAAT CCGCTAATGC AAATAAAAAG AAGTGACTCG
1201 CATATAGTTG CCAACTAATT GTTGATGTTA ATTAATAAGA TTAAGTGTTA
1251 AATTTATGAT AAAAAAGTGT TTAGGGATTG GATCTGGTGA TAAAAAGAT
1301 TATGTAGATG TTTTGCAGA AAAAGTGCTA AATAACATTT GTTTATTTTG
1351 TCATTATGTG TAGAATACAA AGAAGAAATG AACTAAGACT TTATAGTATA
1401 AATTATTGTG GTTGATTAAT TTAGATCTT TTCCTGAAGA ATGATTGCTG

6/11

FIGURE 5 (suite)

1451 AATAATAAAA TGTTCATTTG CTTAATGAGT ATGTCTACTC TTTAGTTATT
1501 TCTGACCCGA AACCAACAAA CACTAATGAT TGATTAACT AACCAATCAA
1551 CTTAACTTGT AAAACGAGTT GGCTTAGAAC ATGATTATTG AGAGGTTCTT
1601 AGGGTGGAGT TCTTAGCGGA ATATAAGAAC CTGTGTCTTA ATTTTAAATT
1651 AAAAAGCTA AGAACTGGCT CTTAAATAAG AGTTTAAGAG CCGGTTCTTA
1701 GTTTTTTTAG TTAAGGTTA AGAGTCAGGT TTTTATATTC CGTTAAGAAC
1751 TTCACCTTAA GGACCTTCTA ATAATCATGC TCTTACGTTA TCTGACCAAA
1801 AATACGAACA GAAAAAATAA AAACCTCACTT ACCTCATCAT ATGAGATATG
1851 ACAATGACAC TACTATTTAA GAAAAACAT TAAAAAAAC ATTAATGGTG
1901 TGGGAGGGTC ATTAATGGAG GTCACACAAA AGAAAGGCCA GAGAAGGCAA
1951 ATTGAAGGTG ACTGTATACA AAAGTAGGTC TTTCAGTTTT GCNCAGAGGA
2001 TAGCTCATGAC ATTCACCAA GCAGCACGAA TGAAGTTCAT CAAGTTTTTA
2051 ATTAGGCTTC GCTTCTTG TG ATTCCCTCGAA AATTTATATC ATTTCATACG
2101 TTTCGTTCTTG TTTTCATGTG ACTTTCCTCT TCTCCTACCG TGAGTCTCAT
2151 CATTTTCGTA GATCGCTANG TTAACGATCC ACGTATCATA NATACACTTC
2201 TTTCTATAGC CGTACGTATA CCACACATTA CNTCATCCCA CTTCNTAACT
2251 TATATAATTT TACTACTCAG ATCACNAGAG TACGTATATC AGGAAGTCAT
2301 TTCTTCTCCT TGTCTATTG CTCTCTTTCT TTGTCCGGCT CTTATCTTCG
2351 CTAGTAGGAA TTTTCCGACG CACCCTTATC CAAGTATGTA TGCTATTCTC
2401 TCTCACTCTC CTTAATTTTA CACACCTCTT TCACTATCTT CAATGTCTTT
2451 TAACTTGTTT CAATTATGTT CGTGTGGGTG GGCAGGTCAT AATCATCATC
2501 ATGTCGGAAT GATGGGTAGG ACAATGAAGC GTCAGAGGAG GCCGGACACG
2551 GTGCAGGTGG CAGGGTCTAG GCTGCCGGAC TGCTCACACG CGTGTGGCTC
2601 ATGCTCTCCA TGCCGTCTTG TGATGGTTAG CTTCGTGTGT GCATCGCTAG
2651 AGGAGGCTGA GACTTGTCCT ATGGCTTATA AGTGCATGTG CAAGAACAAA
2701 TCCTACCCAG TCCCATGATG AATTAGCCTC TCTCACACTT AACTCTATGC
2751 ATTCAGACGT TTTGTTTCTT TCCTTTTGCT TCTTCGGATA AATTACCCTG
2801 TGTAIGTATA AAATGCATCT TTTCTTTTTT TTAATTCTTT TGTCTTTTTG
2851 ATATCTTAAA CACAGTTTTA CGAAACAAGA ATAAGATTAG TTGAGCCACT

7/11

FIGURE 5 (suite)

2901 CAAAAGCGTG GTCGACTAAA TTGAAACAGA AAGCCACACA ACTCATTGGG
2951 CTCTTGTTTA TGGCCCATGA CACCGCATTT CAGACTGCAA CAACCAAAGT
3001 TGTAGAAAGA ATAATATTTA AAGGGCACGT ACATACGTTG TTGGCTTCCA
3051 CCAAACTTTG GAGGCTCTCT AATAATTAGC ACACTCCATT CTATGCATTT
3101 GTTACACACC TTCTATTTTC AACCATTTC A TCTCACCTTT TTAAATGTT
3151 TCCACAGTTA GCTCAGTAAA TTCCTATAT ACAGACATAC ACCTTCCCTC
3201 CACAAGATCA AACAACCACA CTACCTTC CC CGAGTTTTCT CACTACAATT
3251 TAAAAGAAAA AACAATGGC TTGGTCCCTG CTAAGACTCG CAGCAGCAGC
3301 AGTCACTGTC ATGATTCTTA GCCTACTGCT TGGACCTGCA GAGCAAGTTA
3351 GCGGACTGCG TCATATTCCC AAGTCCCAT AGACCACTGA TGTCAAACAC
3401 CCTGAGTTTC TTGTCACCAT TGAGCCAAAA CCAAGTATTC TCATCCCCGG
3451 TGTTGGAAGG TTCTTGCTTC CTCCCAAATG TAAGAAACCA TTCTACCCAT
3501 ACAATCCAGT CAGTGGAGCT CCCCTTACTG GCGGGTCTAT CGGTGGTCAA
3551 ATCCCATCAT TTGGTGGTGG ACAAGGAGGC GGAGCTCGCA CCCAGCTCCC
3601 TGGTGGCGAT GATACCCTTG TCCCAAACCC CGGATTTGAA ACTCCAACCC
3651 CTGCCACTGG AGCTGGCGCT GGAAACAACG GCCAAGTTCC TCCGGTGCCA
3701 CTACCCTGAT TTCTTTTCA ATATCTGTCA ACAAATAAGC ATTTCTTTAA
3751 TGCAAAAGTG TCTATTTGAG TCTTACCTTC TGGTTTACTA GCCGTCACCT
3801 TAAGAGTCAT ATGTTTGTC TCTCTCTCTT TCTTTTGGGA AGAGAGAATC
3851 TTGTGTCTTA TGCCGTCAGA AGAAATCTAA AGCATTTGTT TACATGCCAT
3901 TACATTCAAC TATCAAAATG CTTTATGATA CATGTACTCT ACTCCTCCAT
3951 TTCGCATACT AAGTAGACTA GATGAAGACA AGTACTCAAT CAAAGCTGAA
4001 TACACTAATC ACCCATTCAA ATTATTTCTT AGAATTTGAA TGAACCAAAC
4051 TAACAAAAAA GAACAATTAC AACCTAATGA TACGCTGATG CAAACTACA
4101 AAAGGAGGTC GAATAAGGTA AGAGGATGGA GCAGAGTCGT ATATATCAGA
4151 GAAAGATAGT ATAGTAAGAG AAAAAGAGGA AACACACAAA TGACAAATGA
4201 TAGTATTACA TTTTCTCATC ATTATTCAGA GTAACAAAG CAATAAAGTG
4251 AAAGAATTCA CATAGTGTA TCTTGAATT GAGTATCTAC GGGGAGGAAG
4301 AAACTCGATC AGCCTCAATC ATGGACTTTA TGTNGTACTC TCCTGCTTTG
4351 TACGACGACC TAACCATCGG CCCTGATGCT ACGTACCTGA ATCCCTGTTT

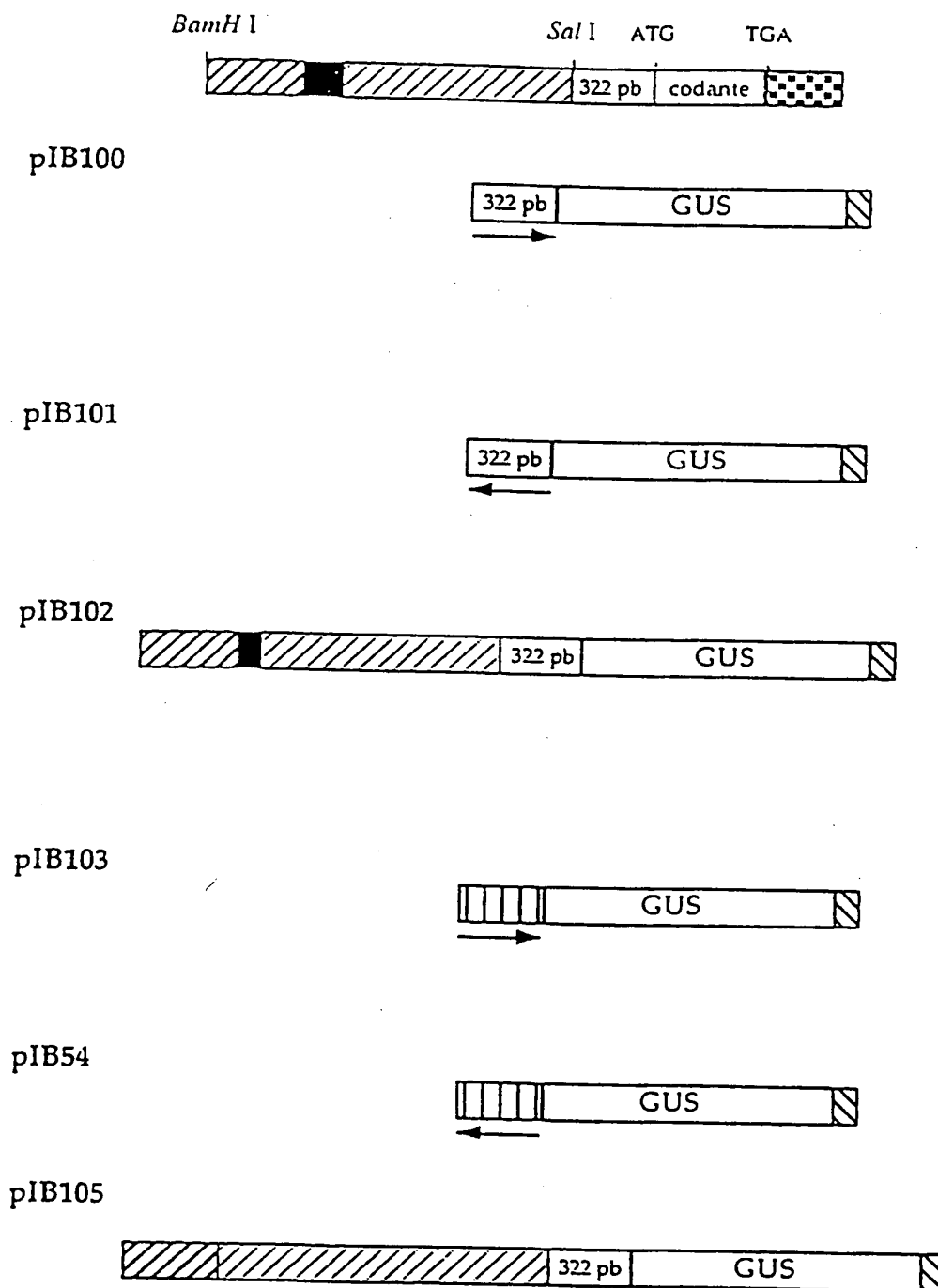
4401 AACCAACAAA CCCATTAGC CCTCTCCTTG TTTCCCATCA AATTTCNGA
4451 ACTAAAAACA GANNAGANAN NAGGCTTACC ATTTCCATGC CNAGANGANG
4501 GTATCTCTCC AAAGCC

FIGURE 5 (suite)

9/11

FIGURE 6

clone génomique 4.1.1



pIB56



pIB57



pIB58

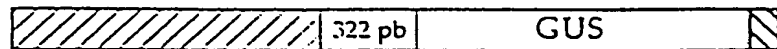


FIGURE 6 (suite)

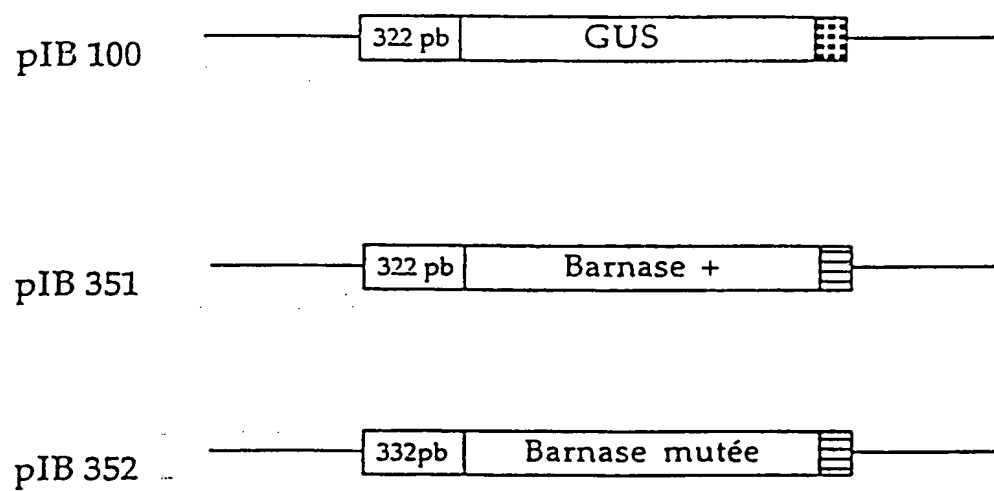


FIGURE 7

LISTE DE SEQUENCES

(1) INFORMATIONS GENERALES:

(i) DEPOSANT:

(A) NOM: INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
(INRA)

(B) RUE: 147 RUE DE L'UNIVERSITE

(C) VILLE: PARIS

(E) PAYS: FRANCE

(F) CODE POSTAL: 75007

(ii) TITRE DE L' INVENTION: PROMOTEUR SPECIFIQUE DES PETALES ET PROCEDE
D'OBTENTION DE PLANTES A FLEURS SANS PETALE

(iii) NOMBRE DE SEQUENCES: 5

(iv) FORME DECHIFFRABLE PAR ORDINATEUR:

(A) TYPE DE SUPPORT: Floppy disk

(B) ORDINATEUR: IBM PC compatible

(C) SYSTEME D' EXPLOITATION: PC-DOS/MS-DOS

(D) LOGICIEL: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (OEB)

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 1:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 140 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: protéine A.thaliana

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 1:

Met	Ala	Ser	Ser	Leu	Ile	Thr	Ser	Ala	Val	Ile	Val	Val	Val	Leu	Ser
1				5					10					15	

Leu	Val	Leu	Gly	Ser	Val	Glu	Gln	Val	Ser	Gly	Leu	Arg	His	Val	Pro
			20					25					30		

Lys	Ser	Pro	Lys	Ile	Thr	Asp	Val	Lys	His	Pro	Asp	Phe	Leu	Val	Thr
			35				40					45			

Ile	Glu	Pro	Lys	Pro	Thr	Ile	Leu	Ile	Pro	Gly	Val	Gly	Arg	Phe	Leu
						55					60				

Leu Pro Pro Lys Cys Lys Lys Pro Phe Tyr Pro Tyr Asn Pro Val Thr
 65 70 75 80
 Gly Ala Pro Leu Thr Gly Gly Gly Ile Pro Ser Tyr Asn Gly Gly Gln
 85 90 95
 Gly Ala Gly Pro His Thr Gln Leu Pro Gly Gly Asp Asp Thr Leu Val
 100 105 110
 Pro Asn Pro Gly Phe Glu Glu Pro Thr Pro Thr Ile Gly Ala Gly Thr
 115 120 125
 Gly Ser Asn Gly Gln Val Pro Pro Val Pro Leu Pro
 130 135 140

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 2:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 147 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: protéine colza

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 2:

Met Ala Ser Ser Leu Leu Thr Leu Ala Ala Ala Ala Val Thr Val Met
 1 5 10 15
 Ile Leu Ser Leu Leu Leu Gly Pro Ala Glu Gln Val Ser Gly Leu Arg
 20 25 30
 His Ile Pro Lys Ser His Lys Thr Thr Asp Val Lys His Pro Glu Phe
 35 40 45
 Leu Val Thr Ile Glu Pro Lys Pro Thr Ile Leu Ile Pro Gly Val Gly
 50 55 60
 Arg Phe Leu Leu Pro Pro Lys Cys Lys Lys Pro Phe Tyr Pro Tyr Asn
 65 70 75 80
 Pro Val Thr Gly Ala Pro Leu Thr Gly Gly Ser Ile Gly Gly Gln Ile
 85 90 95
 Pro Ser Phe Gly Gly Gly Gln Gly Gly Gly Ala Arg Thr Gln Leu Pro
 100 105 110

Gly Gly Asp Asp Thr Leu Val Pro Asn Pro Gly Phe Glu Thr Pro Thr
 115 120 125

Pro Ala Thr Gly Ala Gly Ala Gly Asn Asn Gly Gln Val Pro Pro Val
 130 135 140

Pro Leu Pro
 145

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 3:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 641 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
 (A) NOM/CLE: clone 9.2

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 3:

```

AGCAGTCACT GTCATGATTC TTAGCCTACT GCTTGGACCT GCAGAGCAAG TTAGCGGACT      60
GCGTCATATT CCCAAGTCCC ATAAGACCAC TGATGTCAAA CACCCTGAGT TTCTTGTCAC      120
CATTGAGCCA AAACCAACTA TTCTCATCCC CGGTGTTGGA AGGTTCTTGC TTCCTCCCAA      180
ATGTAAGAAA CCATTCTACC CATACAATCC AGTCACTGGA GCTCCCCTTA CTGGCGGGTC      240
TATCGGTGGT CAAATCCCAT CATTTGGTGG TGGACAAGGA GCGCGAGCTC GCACCCAGCT      300
CCCTGGTGGC GATGATACCC TTGTCCCAA CCGCGGATTT GAAACTCCAA CCCCTGCCAC      360
TGGAGCTGGC GCTGGAAACA ACAGGCCAAGT TCCTCCGGTG CCACTACCCT GATTTCTTTT      420
TCAATATCTG TCAACAAATA AGCATTCTT TAATGCAAAA GTGTCTATTT GAGTCTTACC      480
TTCTGGTTTA CTAGCCGTCA CCTTAAGAGT CATATGTTTG TCATCTCTCT CTTTCTTTTT      540
GGAAGAGAGA ATCTTGTGTC TTATGCCGTC AGAAGAAATT TAAAGCATTT GTTTACATGC      600
CATTACATTC AACTATCAAA ATGCTTTATG ATAAAAAAA A                          641

```

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 4:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 711 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
(A) NOM/CLE: X74360

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 4:

```
GCTTTCTCCT CTACAACAAA ATAAAATAAA ATTAATGGCT TCTTCACTTA TCACCTCCGC      60
AGTCATTGTC GTGGTTTTAA GCCTAGTGCT TGGATCTGTA GAGCAAGTGA GTGGACTACG      120
TCACGTTCCC AAGTCCCCTA AGATCACTGA TGTCAAACAC CCTGACTTTC TTGTAACCAT      180
TGAGCCCCAA CCAACTATTC TCATTCCCGG TGTTGGAAGG TTCTTGCTTC CTCCCAAATG      240
CAAGAAGCCG TTCTACCCTT ACAATCCTGT CACCGGAGCT CCACTTACTG GTGGGGGAAT      300
CCCATCATAT AATGGTGGAC AAGGGGCCCG ACCTCACACC CAACTCCCTG GTGGCGATGA      360
TACGCTTGTC CCAAACCCCG GATTTGAAGA GCCAACCCCG ACCATTGGAG CTGGCACAGG      420
AAGCAACGGC CAAGTTCCAC CAGTGCCACT ACCCTGAGTA TTATTAATCT GTCAACAAAT      480
AAGCATATCT TAGATGCAAA CATGTCTGTT TTGGTGTCTT GAGTCTTGGT TAGATAAGTA      540
ACCCGCTACT TTACTAGCCG TTTCGTTTGC CATCTCTTTT TCTCTCTGTG TCTCTCTCTA      600
TTTGCTACAA AAAGAGAGAA TCTTGTTTCA TGTTTTTCAG TTTGTCTTTA GATGAATTCA      660
TTTTACATA CCATTATATT AAAATAAAGG AAATGTTCCG CAGTAAAAAA A              711
```

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 5:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
(A) LONGUEUR: 4516 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(ix) CARACTERISTIQUE:
(A) NOM/CLE: clone génomique 4.1.1

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 5:

```
GGATCCGTTG TTAGGATTTT AGGGCTTTGT GAGTTCAGAA AATCTCTAAA GCTTCATTTT      60
TATCAATCAA GCTTTTTTTT TTAAATTAA ACATTCTAAA GTCTCTAAAG TCATTATAAG      120
```

TTTATTTCTC CTCTTTTGTG TTGGTTTTTC TAAACCAAT AATGCGTGAT TTTTGCAATT	180
TTTTTTTTTC ACTAAAAATG TTTTATTTTC TTTTACTTT GTAACATAAT CACTTATTTA	240
AGTTTATAAC AATTTTCGTTG AAATTTAAAA TTGACAAATT AATCATTGAA TTTTTTCTT	300
GTTCATTTAA GATCCGTATT GTACTACTTT TATAATCATC TATATTTAAA TTTTAAATAG	360
TATCATAATT TTATTTTTTA ATAAAATATT TAAATATTAT CCAAACCTAT AATTTTAATA	420
CCAATCTGTT TTAATAAAAC GTAAACGAAT CAGCCAAATT CCTATGGCCA TAATTCTGAA	480
TCCAAGCTTA AACAAAAGTA CTTATCAATC GGACCCTAAG AGTCCTCGTA ATTAGGGTTC	540
TTTAAGATTT TTACCATTTG AGCAGTTGAA TCAATGATCG TTTTCATGCG AGTAACTTA	600
TTTGTATAT TTAGTGGGGG CAGCTGCCTC CTCCCTGAAC ACCGTAGATC TCCCCCTGT	660
TTCTATCTCT TACTGTGGAT GTAAGATCTA TTATTTTCTT GGGTTTTGTG TTTGTGAATG	720
CGTCTTATAT AGTGAGCATT AGCTTAGAGT TTCCCATTTT ATTGAATATT TTCATTCTTA	780
TTCATGTGGG TATCACAAAG GCATGGCCGA CTACCACTAT GTTATTCCTA TTCCTCCAGA	840
TATTGCACAG CAGAAGAAGA GGAAATGGAT GGAGGTGAAG TCGCTTGCAG GTGATTCTTT	900
TCCGTTTATT TTGGTATTTT CATTATATTG CAAATCTTAA TATTTTGTAG CGAAAAGAAT	960
ATTTTGTAGC ATAGTTTAAA ATTTTAAATA CGTATTCTTG CTTTAAGCTG TGTTTTGATG	1020
TAAAGTAAAA CATATGTACC AAAAGAACAA GACAATGTTT AAGTCTATAC GGAACCCATA	1080
CGGGACCCTT GTCCTTGTCC AGTTGACATT GTTCAGGCCA AGAACTACAC CAACAATTTT	1140
AAATCAACCT ATTGAAATTA GAAAAGAAAT CCGCTAATGC AAATAAAAAG AAGTGACTCG	1200
CATATAGTTG CCAACTAATT GTTGATGTTA ATTA AAAAGA TTAAGTGTTA AATTTATGAT	1260
AAAAAAGTGT TTAGGGATTG GATCTGGTGA TAAAAAAGAT TATGTAGATG TTTTGCAGA	1320
AAAAGTGCTA AATAACATTT GTTTATTTTG TCATTATGTG TAGAATACAA AGAAGAAATG	1380
AACTAAGACT TTATAGTATA AATTATTGTG GTTGATTAAT TTTAGATCTT TTCCTGAAGA	1440
ATGATTGCTG AATAATAAAA TGTTCAATTT CTTAATGAGT ATGTCTACTC TTTAGTTATT	1500
TCTGACCCGA AACCAACAAA CACTAATGAT TGATTAACT AACCAATCAA CTTAACTTGT	1560
AAAACGAGTT GGCTTAGAAC ATGATTATTG AGAGGTTCTT AGGGTGGAGT TCTTAGCGGA	1620
ATATAAGAAC CTGTGTCTTA ATTTTAAATT AAAAAAGCTA AGAACTGGCT CTTAAATAAG	1680
AGTTTAAGAG CCGGTTCTTA GTTTTTTTAG TTAAAAGTTA AGAGTCAGGT TTTTATATTC	1740

CGTTAAGAAC TTCACCTTAA GGACCTTCTA ATAATCATGC TCTTACGTTA TCTGACCAAA 1800
AATACGAACA GAAAAAATAA AAACTCACTT ACCTCATCAT ATGAGATATG ACAAATGCAC 1860
TACTATTTAA GAAAAACAT TAAAAAAAC ATTAATGGTG TGGGAGGGTC ATTAATGGAG 1920
GTCACACAAA AGAAAGGCCA GAGAAGGCAA ATTGAAGGTG ACTGTATACA AAAGTAGGTC 1980
TTTCAGTTTT GCNCAGAGGA AGCTCATGAC ATTCACCAA GCAGCACGAA TGAAGTTCAT 2040
CAAGTTTTTA ATTAGGCTTC GCTTCTTG TG ATTCCTCGAA AATTTATATC ATTTCATACG 2100
TTCGTTCTTG TTTTCATGTG ACTTTCCTCT TCTCCTACCG TGAGTCTCAT CAATTTTCGTA 2160
GATCGCTANG TTAACGATCC ACGTATCATA NATACACTTC TTTCTATAGC CGTACGTATA 2220
CCACACATTA CNTCATCCCA CTTCNTAACT TATATAATTT TACTACTCAG ATCACNAGAG 2280
TACGTATATC AGGAAGTCAT TTCTTCTCCT TGTCTATTC CTCTCTTCT TTGTCCGGCT 2340
CTTATCTTCG CTAGTAGGAA TTTCCGACG CACCCTTATC CAAGTATGTA TGCTATTCTC 2400
TCTCACTCTC CTTAATTTTA CACACCTCTT TCACTATCTT CAATGTCTTT TAACTTGTTT 2460
CAATTATGTT CGTGTGGGTG GGCAGGTCAT AATCATCATC ATGTCGGAAT GATGGGTAGG 2520
ACAATGAAGC GTCAGAGGAG GCCGGACACG GTGCAGGTGG CAGGGTCTAG GCTGCCGGAC 2580
TGCTCACACG CGTGTGGCTC ATGCTCTCCA TGCCGTCTTG TGATGGTTAG CTTCTGTGTG 2640
GCATCGCTAG AGGAGGCTGAGGACTTGTCCT ATGGCTTATA AGTGCATGTG CAAGAACAAA 2700
TCCTACCCAG TCCCATGATG AATTAGCCTC TCTCACACTT AACTCTATGC ATTCAGACGT 2760
TTGTTTTCTT TCCTTTTGCT TCTTCGGATA AATTACCCTG TGTATGTATA AAATGCATCT 2820
TTTCCTTTTT TTAATTCTTT TGTCTTTTTG ATATCTTAAA CACAGTTTTA CGAAACAAGA 2880
ATAAGATTAG TTGAGCCACT CAAAAGCGTG GTCGACTAAA TTGAAACAGA AAGCCACACA 2940
ACTCATTGGG CTCTTGTTTA TGGCCCATGA CACCGCATTT CAGACTGCAA CAACCAAAGT 3000
TGTAGAAAGA ATAATATTTA AAGGGCACGT ACATACGTTG TTGGCTTCCA CCAAACCTTG 3060
GAGGCTCTCT AATAATTAGC AACTCCATT CTATGCATTT GTTACACACC TTCTATTTTC 3120
AACCATTTC TCTCACCTTT TTTAAATGTT TCCACAGTTA GCTCAGTAAA TCACTATAT 3180
ACAGACATAC ACCTTCCCTC CACAAGATCA AACAACCACA CTACCTTCCC CGAGTTTTCT 3240
CACTACAATT TAAAAGAAAA AACAAATGGC TTCGTCCCTG CTAACACTCG CAGCAGCAGC 3300
AGTCACTGTC ATGATTCTTA GCCTACTGCT TGGACCTGCA GAGCAAGTTA GCGGACTGCG 3360

TCATATTCCC	AAGTCCCATA	AGACCACTGA	TGTCAAACAC	CCTGAGTTTC	TTGTCACCAT	3420
TGAGCCAAAA	CCAACTATTC	TCATCCCCGG	TGTTGGAAGG	TTCTTGCTTC	CTCCCAAATG	3480
TAAGAAACCA	TTCTACCCAT	ACAATCCAGT	CACTGGAGCT	CCCCTTACTG	GCGGGTCTAT	3540
CGGTGGTCAA	ATCCCATCAT	TTGGTGGTGG	ACAAGGAGGC	GGAGCTCGCA	CCCAGCTCCC	3600
TGGTGGCGAT	GATACCCTTG	TCCCAAACCC	CGGATTTGAA	ACTCCAACCC	CTGCCACTGG	3660
AGCTGGCGCT	GGAAACAACG	GCCAAGTTCC	TCCGGTGCCA	CTACCCTGAT	TTCTTTTTCA	3720
ATATCTGTCA	ACAAATAAGC	ATTTCTTTAA	TGCAAAAGTG	TCTATTTGAG	TCTTACCTTC	3780
TGGTTTACTA	GCCGTCACCT	TAAGAGTCAT	ATGTTTGTCA	TCTCTCTCTT	TCTTTTTGGA	3840
AGAGAGAATC	TTGTGTCTTA	TGCCGTCAGA	AGAAATCTAA	AGCATTTGTT	TACATGCCAT	3900
TACATTCAAC	TATCAAAATG	CTTTATGATA	CATGTACTCT	ACTCCTCCAT	TTCGCATACT	3960
AAGTAGACTA	GATGAAGACA	AGTACTCAAT	CAAAGCTGAA	TACACTAATC	ACCCATTCAA	4020
ATTATTTTCT	AGAATTTGAA	TGAACCAAAC	TAACAAAAAA	GAACAATTAC	AACCTAATGA	4080
TACGCTGATG	CAAACTACA	AAAGGAGGTC	GAATAAGGTA	AGAGGATGGA	GCAGAGTCGT	4140
ATATATCAGA	GAAAGATAGT	ATAGTAAGAG	AAAAAGAGGA	AACACACAAA	TGACAAATGA	4200
TAGTATTACA	TTTTCTCATC	ATTATTCAGA	GTAAACAAAG	CAATAAAGTG	AAAGAATTCA	4260
CATAGTGTAA	TCTTGGAATT	GAGTATCTAC	GGGGAGGAAG	AAACTCGATC	AGCCTCAATC	4320
ATGGACTTTA	TGTNGTACTC	TCCTGCTTTG	TACGACGACC	TAACCATCGG	CCCTGATGCT	4380
ACGTACCTGA	ATCCCTGTTT	AACCAACAAA	CCCATTTAGC	CCTCTCCTTG	TTTCCCATCA	4440
AATTTCCNGA	ACTAAAAACA	GANNAGANAN	NAGGCTTACC	ATTCCATGC	CNAGANGANG	4500
GTATCTCTCC	AAAGCC					4516

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte Application No
PCT/FR 98/02043

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 C12N15/82 C12N15/29 C12N5/10 A01H5/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 94 00582 A (CENTRE FOR PLANT BREEDING AND REPRODUCTION RESEARCH (CPRO-DLO)) 6 January 1994 see the whole document ---	1-4,6-10
A	EP 0 524 910 A (SANDOZ LTD ; SANDOZ AG) 27 January 1993 see abstract see page 4, line 35-55; examples 4.2,8 ---	1-3,6,7, 10
A	WO 93 14211 A (E. COEN ET AL.,) 22 July 1993 see page 2, line 33 - page 3, line 9 see page 8, line 7-25 --- -/--	1-3,6,7, 10

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

7 January 1999

Date of mailing of the international search report

15/01/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mateo Rosell, A.M.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. Appl. No.

PCT/EP 98/02043

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>A.L. PHILLIPS AND A.K. HUTTLY: "Cloning of two gibberellin-regulated cDNAs from <i>Arabidopsis thaliana</i> by subtractive hybridization: expression of the tonoplast water channel, gamma-TIP, is increased by GA3"</p> <p>PLANT MOLECULAR BIOLOGY, vol. 24, 1994, pages 603-615, XP002070644 BE</p> <p>cited in the application see abstract see figure 3B see page 612, column 2 see page 613, column 2</p>	1,2
A	<p>C.D. DAY ET AL.,: "Genetic ablation of petal and stamen primordia to elucidate cell interactions during floral development"</p> <p>DEVELOPMENT, vol. 121, 1995, pages 2887-2895, XP002070645 CAMBRIDGE, GB</p> <p>see the whole document</p>	1,3,4, 6-8,10
A	<p>N. CHOISNE ET AL.,: "Transactivation of a target gene using a suppressor tRNA in transgenic tobacco plants"</p> <p>THE PLANT JOURNAL, vol. 11, no. 3, 1 March 1997, pages 597-604, XP002070646 GB</p> <p>cited in the application see the whole document</p>	1,11
P,X	<p>EP 0 823 480 A (MAX PLANCK GESELLSCHAFT) 11 February 1998 see page 6, line 27 - page 8, line 5; examples IV,V</p>	1,4-6, 11,12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ation on patent family members

Inter: Application No
PCT/TR 98/02043

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9400582 A	06-01-1994	EP 0672155 A	20-09-1995
EP 0524910 A	27-01-1993	AU 2051492 A	28-01-1993
		CA 2074541 A	26-01-1993
		JP 5227978 A	07-09-1993
		NZ 243694 A	23-12-1993
		ZA 9205599 A	24-01-1994
WO 9314211 A	22-07-1993	AU 671272 B	22-08-1996
		AU 3645493 A	03-08-1993
		EP 0620855 A	26-10-1994
		JP 7506000 T	06-07-1995
EP 0823480 A	11-02-1998	AU 4551597 A	25-02-1998
		WO 9805789 A	12-02-1998

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De: le Internationale No
PCT/8/02043

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 6 C12N15/82 C12N15/29 C12N5/10 A01H5/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 C12N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A.	WO 94 00582 A (CENTRE FOR PLANT BREEDING AND REPRODUCTION RESEARCH (CPRO-DLO)) 6 janvier 1994 voir le document en entier	1-4, 6-10
A	EP 0 524 910 A (SANDOZ LTD ; SANDOZ AG) 27 janvier 1993 voir abrégé voir page 4, ligne 35-55; exemples 4.2, 8	1-3, 6, 7, 10
A	WO 93 14211 A (E. COEN ET AL.,) 22 juillet 1993 voir page 2, ligne 33 - page 3, ligne 9 voir page 8, ligne 7-25	1-3, 6, 7, 10
-/--		

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

7 janvier 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

15/01/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Mateo Rosell, A.M.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der Internationale No
PCT/FR 98/02043

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>A.L. PHILLIPS AND A.K. HUTTLY: "Cloning of two gibberellin-regulated cDNAs from Arabidopsis thaliana by subtractive hybridization: expression of the tonoplast water channel, gamma-TIP, is increased by GA3"</p> <p>PLANT MOLECULAR BIOLOGY, vol. 24, 1994, pages 603-615, XP002070644 BE</p> <p>cité dans la demande voir abrégé voir figure 3B voir page 612, colonne 2 voir page 613, colonne 2</p>	1,2
A	<p>C.D. DAY ET AL.,: "Genetic ablation of petal and stamen primordia to elucidate cell interactions during floral development"</p> <p>DEVELOPMENT, vol. 121, 1995, pages 2887-2895, XP002070645 CAMBRIDGE, GB</p> <p>voir le document en entier</p>	1,3,4, 6-8,10
A	<p>N. CHOISNE ET AL.,: "Transactivation of a target gene using a suppressor tRNA in transgenic tobacco plants"</p> <p>THE PLANT JOURNAL, vol. 11, no. 3, 1 mars 1997, pages 597-604, XP002070646 GB</p> <p>cité dans la demande voir le document en entier</p>	1,11
P,X	<p>EP 0 823 480 A (MAX PLANCK GESELLSCHAFT) 11 février 1998 voir page 6, ligne 27 - page 8, ligne 5; exemples IV,V</p>	1,4-6, 11,12

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux familles de brevets

Der le Internationale No

PCT/98/02043

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9400582 A	06-01-1994	EP 0672155 A	20-09-1995
EP 0524910 A	27-01-1993	AU 2051492 A	28-01-1993
		CA 2074541 A	26-01-1993
		JP 5227978 A	07-09-1993
		NZ 243694 A	23-12-1993
		ZA 9205599 A	24-01-1994
WO 9314211 A	22-07-1993	AU 671272 B	22-08-1996
		AU 3645493 A	03-08-1993
		EP 0620855 A	26-10-1994
		JP 7506000 T	06-07-1995
EP 0823480 A	11-02-1998	AU 4551597 A	25-02-1998
		WO 9805789 A	12-02-1998

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

This Page Blank (uspto)